



**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT JANTAN
STRAIN BALB/C YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK**

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

Disusun oleh:

NAMA : SARI QURATUL'AINY

NIM : G2A 002 154

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

HALAMAN PENGESAHAN

Artikel Ilmiah *PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN E TERHADAP JUMLAH SPERMATOZOA MENCIT
JANTAN STRAIN BALB/C YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK* yang disiapkan dan disusun oleh :

**Sari Quratul'ainy
G2A 002 154**

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Semarang pada tanggal 25 Juli 2006 dan diperbaiki sesuai saran yang diberikan

Semarang, Agustus 2006

Tim Penguji

Ketua

Penguji

dr. RB. Bambang W, M.Kes

NIP 131 281 555

Dr. dr. Endang Purwaningsih, MPH, Sp.GK

NIP 131 124 830

Pembimbing,

dr. Ahmad Zulfa Juniarto, M.Si, Med

NIP 132 163 896

The effect of Vitamin E to Sperm Count of Male Balb/C exposed by Cigarette Smoke

Sari Quratul'ainy, Ahmad Zulfa Juniarto***

ABSTRACT

Background :

Oxidative stress is the main factor that causes man infertility.¹ It is caused by excessive production of ROS (Reactive Oxygen Species). The production of ROS is greatly enhanced by various environmental and life style factors such as pollution and smoking. ² Vitamin E as antioxidant has an important role in protecting cells from ROS. In this research, we used smoke as oxidant which results oxidative stress. The purpose of this research is to prove the effect of Vitamin E to improve sperm count of male Balb/C exposed by Cigarette Smoke

Method :

This research is laboratoric experimental research with Post Test–Only Control Group Design. The subjects of this research are 30 male Balb/C divided randomly into 6 groups: Group K- has no treatment, neither vitamin E nor exposure of cigarette smoke. Group K+ is only exposed by cigarette smoke. Group P1,P2,P3, and P4 are exposed by cigarette smoke and given vitamin E with dose 0,02 mg/gr BB; 0,04 mg/gr BB; 0,06 mg/gr BB and 0,12 mg/gr BB. Treatment was given in 14 days.

Result :

There is no significant difference in sperm count between groups that shows in Oneway ANOVA test. Posthoc test shows there are only significant differences between group K- and K+ and between group K- and P1.

Conclusions:

The giving of vitamin E in to male Balb/C –which are exposed by cigarette smoke- doesn't show any significant improvement in sperm count.

keywords : vitamin E, cigarette smoke, spermatozoa, male Balb/C

* Student of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang, Indonesia

Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Strain Balb/C Jantan Yang Diberi paparan asap rokok

Sari Quratul'ainy*, Ahmad Zulfa Juniarto**

ABSTRAK :

Latar Belakang :

Stres Oksidatif merupakan faktor utama penyebab infertilitas pada pria.¹ Stres Oksidatif ini diakibatkan oleh adanya peningkatan *ROS (Reactive Oxygen Species)*. Produksi ROS dapat meningkat pada pria perokok dan pada lingkungan dengan polusi tinggi.² Vitamin E sebagai antioksidan memegang peranan yang sangat penting sebagai protektor sel terhadap ROS. Dalam hal ini peneliti menggunakan asap rokok sebagai oksidan yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan apakah pemberian vitamin E dapat meningkatkan jumlah spermatozoa mencit Balb/c jantan yang diberi paparan asap rokok.

Metodologi :

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *Post Test – Only Control Group Design*. Subyek penelitian ini (hewan coba) adalah 30 mencit strain Balb/C jantan, yang dibagi secara acak menjadi enam kelompok: Kelompok K- tidak mendapat perlakuan paparan asap rokok dan pemberian vitamin E, kelompok K+ hanya diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin E, kelompok P1, P2, P3, dan P4 diberi paparan asap rokok dan vitamin E dengan dosis bertingkat 0,02 mg/gr BB; 0,04 mg/gr BB; 0,06 mg/gr BB and 0,12 mg/gr BB. Perlakuan diberikan selama 14 hari.

Hasil :

Tidak terdapat perbedaan signifikan pada jumlah sperma antara kelompok yang ditunjukkan oleh uji *Oneway ANOVA*. Uji Posthoc menunjukkan perbedaan yang signifikan hanya terdapat antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif dan antara kontrol negatif dan kelompok P1.

Kesimpulan :

Pemberian vitamin E pada mencit Balb/C yang diberi paparan asap rokok tidak menunjukkan adanya peningkatan jumlah spermatozoa yang signifikan.

Kata kunci : vitamin E, rokok, spermatozoa, *Balb/C* jantan

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

** Dosen Pengajar bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

PENDAHULUAN

Lima belas persen pasangan suami-istri mengalami infertilitas, hal ini merupakan problem yang cukup meresahkan bagi pasangan tersebut. Faktor infertilitas suami memegang peranan sekitar 50% kasus dimana 25% merupakan kasus infertilitas pria yang tidak diketahui penyebabnya.² Stres Oksidatif (*Oxidative stress*) merupakan faktor utama penyebab infertilitas pada pria.¹ Stres Oksidatif ini diakibatkan oleh adanya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang akan mengakibatkan kerusakan DNA dan pada akhirnya terjadi apoptosis spermatozoa. Produksi ROS dapat meningkat pada pria dengan kebiasaan buruk merokok dan pada lingkungan dengan polusi tinggi.²

Rokok terdiri dari \pm 4000 zat kimia, diantaranya alkaloid, nitrosamin, molekul-molekul anorganik dan komponen lain yang merupakan spesies Nitrogen atau Oksigen. Merokok dapat meningkatkan kadar ROS dan menurunkan antioksidan pada semen. Hal tersebut dapat menimbulkan kerusakan DNA seluler yaitu terjadinya fragmentasi DNA seluler³ dan abnormalitas morfologi (kepala, leher dan ekor) spermatozoa.⁴ Studi ini dibuktikan dengan peningkatan Kadar 8-OHdG (marker fragmentasi DNA) sebesar 50% pada sperma pria perokok.⁵ Pada akhirnya, proses diatas menyebabkan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa, baik dalam jumlah dan motilitas.⁶

Antioksidan memegang peranan yang sangat penting sebagai protektor spermatozoa terhadap ROS. Antioksidan tersebut antara lain *Superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan *Glutathione peroxidase* (GPX). Selain itu juga ada antioksidan nonenzimatik seperti vitamin C, vitamin E, piruvat, glutation, dan carnitin.³ Vitamin E larut dalam lemak dan merupakan nutrisi esensial bagi manusia. Vitamin E sebagai salah satu antioksidan nonenzimatik dapat mencegah terjadinya kerusakan akibat stres oksidatif. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya penurunan malondialdehyde (MDA) yang merupakan marker dari proses peroksidasi lipid (salah satu proses perusakan membran plasma).² Pemberian vitamin E yang adekuat diharapkan dapat mengatasi stress oksidatif yang dapat menimbulkan infertilitas pria. Dalam hal ini peneliti menggunakan asap rokok sebagai oksidan yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *Post Test – Only*

Control Group Design yang menggunakan binatang percobaan mencit sebagai subyek penelitian.

Vitamin E yang digunakan adalah d-Alfa-Tocopherol yang dilarutkan. Sedangkan rokok yang digunakan adalah rokok kretek. Paparan asap rokok dilakukan sebanyak $\frac{1}{2}$ batang setiap harinya selama 14 hari dengan menggunakan spuit 10 cc sebagai pompa. Kandang pemaparan asap rokok adalah kotak yang telah diberi ventilasi secukupnya, setiap kandang diisi 5 ekor mencit pada saat pemaparan asap rokok.

Hewan coba dalam penelitian ini adalah mencit strain BALB/c sebanyak 30 ekor, dan 20 ekor cadangan yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Airlangga, Surabaya. Sampel penelitian diambil secara acak dengan kriteria inklusi: mencit strain BALB/c, jantan, sehat, umur 8 – 12 minggu, berat badan 20 – 25 gram. Mencit terlebih dulu diadaptasikan selama satu minggu serta diberikan makan dan minum secara ad libitum. Semua mencit tersebut kemudian dibagi menjadi enam kelompok secara acak, masing – masing terdiri dari lima ekor mencit dengan perlakuan berbeda pada tiap kelompoknya. Vitamin E yang digunakan merupakan larutan vitamin E 2 mg per 1 ml air. Larutan vitamin E ini lalu diberikan kepada mencit sesuai dosis masing-masing. Kelompok K- (kontrol negatif) tidak mendapat perlakuan paparan asap rokok dan pemberian vitamin E. Kelompok K+ hanya diberi paparan asap rokok tanpa pemberian vitamin E. Kelompok P1 diberi paparan asap rokok dan vitamin E dosis 0,02 mg/g BB, kelompok P2 diberi paparan asap rokok dan vitamin E dosis 0,04 mg/g BB, kelompok P3 diberi paparan asap rokok dan vitamin E dosis 0,06 mg/g BB, kelompok P4 diberi paparan asap rokok dan vitamin E dosis 0,12 mg/g BB. Perlakuan dilakukan selama 14 hari agar didapatkan kondisi kronis pada mencit.

Pada hari ke-15 mencit tersebut diterminasi, kemudian diambil sampel spermatozoa pada tiap–tiap kelompok untuk diperiksa jumlah spermatozoa. Sampel diambil dari epididimis yaitu tepatnya 1 cm dibawah caput epididimis. Ditempat tersebut di-klem, kemudian dipotong. Bagian yang dipotong tadi, dikeluarkan spermanya dengan cara dipencet, kemudian ditetesi NaCl 0,9% sebanyak 2 tetes, diaduk agar menjadi homogen. Sperma diletakkan diatas *objectglass*, ditutup dengan *deckglass* diperiksa dibawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 10X. Prosedur pemeriksaan jumlah spermatozoa dilakukan pada masing-masing kelompok.. Jumlah spermatozoa dihitung dari rerata lima lapangan pandang. Pemeriksaan kelompok P4 tidak dapat dilakukan karena jumlah mencit tidak memenuhi syarat ($n=5$), mencit pada kelompok ini ditemukan mati satu persatu sejak diberi perlakuan dan pada akhirnya tidak ada yang tersisa pada hari ke-15.

Analisis data menggunakan *SPSS 13.00 for Windows*. Analisis data dimulai dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Data didapatkan terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *Oneway*

ANOVA. Uji ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

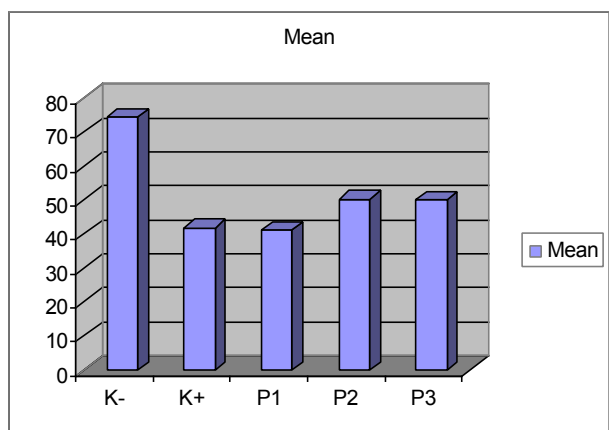
HASIL

Data jumlah spermatozoa didapatkan dengan deskripsi sebagai berikut :

Tabel.1 . Hasil analisis data penelitian

Kelompok	Mean	SD	Nilai min	Nilai max
K-	74.4600	29.76925	44.80	122.00
K+	41.8800	14.65374	22.80	61.00
P1	41.2400	17.33805	20.20	59.20
P2	50.3200	25.77037	30.40	92.60
P3	50.0000	23.13958	20.20	78.20

Histogram perbandingan jumlah spermatozoa antar kelompok



Rerata jumlah spermatozoa paling tinggi didapatkan pada kelompok K- (74.4600) dan kemudian menurun pada kelompok K+ (41.8800). Pada kelompok perlakuan (P1-P3) tidak terjadi peningkatan jumlah spermatozoa yang signifikan.

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ($p>0.05$). Uji selanjutnya adalah uji

Oneway ANOVA. Dari uji tersebut didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna dalam hal jumlah spermatozoa antara kelompok perlakuan . Untuk mengetahui beda antar kelompok dilanjutkan dengan uji *Posthoc*, dengan hasil sebagai berikut:

Tabel.2 . Hasil analisis data perbandingan antar kelompok

p	K-	K+	P1	P2	P3
K-	-	0.035*	0.032*	0.110	0.105
K+	0.035*	-	0.965	0.565	0.580
P1	0.032*	0.965	-	0.536	0.551
P2	0.110	0.565	0.536	-	0.983
P3	0.105	0.580	0.551	0.983	-

Perbedaan yang bermakna hanya terdapat antara kontrol negative (K-) dan kontrol positif ($p=0.035$), dan antara kontrol negatif dan kelompok P1 ($p=0.032$). Sedangkan antar kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna (bermakna $p<0.05$)

PEMBAHASAN

Stress oksidatif adalah suatu kondisi dimana terjadi peningkatan kerusakan seluler yang disebabkan oleh oksigen dan *oxygen-derived oxidants* yang lebih dikenal sebagai ROS (*Reactive Oxygen Spesies*). Proses ini adalah hasil dari ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS, dimana terjadi peningkatan pembentukan ROS tanpa diimbangi oleh eliminasinya oleh antioksidan dalam tubuh. Pembentukan ROS adalah proses fisiologi tubuh , namun apabila terjadi peningkatan yang berlebihan maka akan dapat berpengaruh negatif terhadap tubuh. Dalam hal ini dikaitkan dengan infertilitas pria. 40.88% pasien pria infertil memiliki sperma dengan kadar ROS yang tinggi.⁷ Selain merusak membran plasma, stress oksidatif juga dapat merusak integritas DNA pada nukleus spermatozoa. Kerusakan DNA ini pada akhirnya akan menginduksi terjadinya apoptosis sel yang pada akhirnya menyebabkan turunnya jumlah spermatozoa.⁸

ROS merupakan radikal bebas yang mempunyai kemampuan oksidatif yang cukup tinggi. Radikal bebas adalah senyawa (tidak hanya derivat oksigen) yang mengandung satu atau lebih elektron bebas sehingga bersifat tidak stabil. Senyawa ROS yang paling berperan dalam sistem reproduksi adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksil (ROO^-) ,dan hidroksil (OH^-). Selain itu derivat nitrogen seperti nitrogen oksida

(NO-) dan peroksinitrat (ONOO-) juga memegang peranan penting pada fertilitas dan sistem reproduksi.⁹

Membran plasma dan sitoplasma sel spermatozoa mengandung asam lemak tak jenuh dalam jumlah besar, sehingga ROS dapat dengan mudah menembus masuk membran plasma.¹⁰ Mekanisme utama dalam proses kerusakan membran spermatozoa oleh ROS ini adalah pada reaksi peroksidasi lipid atau LPO (*Lipid peroxidation*). Hidrogen Peroksida (H₂O₂) adalah senyawa yang memproduksi ROS terbesar dalam spermatozoa manusia. Peningkatan hidrogen peroksida akan menurunkan ATP intraselular dan fosforilasi protein axonemal. Selain itu juga dapat menginduksi proses peroksidasi lipid yang akan menimbulkan kematian sel.¹

Spermatozoa menghasilkan ROS dalam 2 mekanisme:¹

1. Sistem oksidasi NADPH (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) pada level membrane plasma spermatozoa
2. NADH (*nicotinamide adenine dinucleotide*) dependen oksidoreduktase pada level mitokondria

Spermatozoa mengandung banyak mitokondria karena dibutuhkan untuk suplai energi. Pada mitokondria yang mengalami disfungsi, produksi ROS secara signifikan meningkat. Jadi, pada proses ini terjadi fenomena dimana ROS dapat menyebabkan disfungsi mitokondria dan mitokondria yang mengalami disfungsi akan menghasilkan peningkatan ROS.¹ Salah satu metode untuk memeriksa fungsi mitokondria adalah dengan *electrochemical gradient* selama proses fosforilasi oksidatif, yaitu ketika terjadi pompa proton dari dalam ke luar mitokondria. *Inner Mitochondrial Membrane Potential* (MMP) ini digunakan sebagai ukuran fungsi dari mitokondria. Wang, et.al (2003) menunjukkan bahwa MMP menurun pada laki-laki infertil dan didapatkan adanya peningkatan produksi ROS yang berkorelasi positif dengan kualitas sperma.¹¹

Mitokondria juga memegang peranan penting dalam apoptosis. Peningkatan ROS dapat merusak membran mitokondria sehingga terjadi pelepasan protein sitokrom C yang akan menginduksi terjadinya apoptosis.

Rokok (tembakau) mengandung sekitar 4000 zat yang sebagian besar diantaranya adalah oksigen reaktif atau nitrogen spesies.¹² Radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok jumlahnya sangat banyak, dalam satu kali

hisap diperkirakan masuk 1014 molekul radikal bebas. Diduga bahwa oksidan yang dihasilkan oleh asap rokok mengandung H₂O₂ yang sangat tinggi sehingga akan mempermudah kerusakan sel.¹³ Sebuah studi telah membuktikan adanya korelasi positif antara merokok dan kerusakan DNA.⁹ Dalam studi lain juga ditemukan bahwa merokok dapat meningkatkan kadar ROS dan menurunkan antioksidan pada semen.³ Hal tersebut dapat menimbulkan kerusakan DNA sperma yaitu terjadi fragmentasi DNA pada sperma.⁴ Studi ini dibuktikan dengan peningkatan Kadar 8-OHdG (marker fragmentasi DNA) sebesar 50% pada pria perokok.⁵ Selain itu pada pria perokok juga ditemukan mengalami penurunan jumlah sperma.⁶ Dalam sebuah penelitian ditemukan bahwa tikus yang diberi paparan asap rokok kronik mengalami peningkatan kadar MDA serum sebesar (0,332±0,92) ug/dl walaupun tidak signifikan (p>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa adanya radikal bebas dalam jumlah banyak dalam tubuh akan mengalami reaksi yang menghasilkan senyawa toksik, diantaranya MDA.¹³

Antioksidan pada semen dapat mengendalikan kadar ROS. Sehingga kadar ROS tidak akan meningkat lebih dari fungsi normalnya. Hal ini tentunya dapat melindungi sperma dari kerusakan akibat stress oksidatif.¹

Antioksidan terdiri dari antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen ini dikemukakan oleh ilmuwan Amerika pada tahun 1968 oleh J.M. McCord dan I. Fridovich yang menemukan enzim antioksidan alami dalam tubuh manusia yaitu *Superoxide dismutase* (SOD). Hanya dalam waktu singkat setelah teori tersebut disampaikan, selanjutnya ditemukan enzim-enzim antioksidan alami lainnya seperti *Katalase* dan *Glutathione peroxidase* (GPX). Sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari makanan atau *food supplements*. Menurut Phyllis A Balch, PhD & James F. Balch, MD dalam bukunya *Prescription for Nutritional Healing* maka yang dapat dimasukkan dalam antioksidan eksogen ini adalah : *Alpha lipoic acid* (ALA), *Bilberry* (*Vaccinium myrtillus*), *Burdock* (*Artium lappa*), *Carotenoids*, *Coenzyme Q 10*, *Curcumin* (*Tumeric*), *Flavonoids*, *Garlic*, *Ginkgo biloba*, *Glutathione*, *Grape seed extract*, *Green tea*, *Melatonin*, *Methionine*, *N-Acetylcysteine* (NAC), *Nicotinamide Adenine dinucleotide* (NADH), *Oligomeric Proanthocyanidins* (OPCs), *Pycnogenol*, *Selenium*, *Silymarin*, Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, dan Seng.¹⁴

Selain itu terdapat pembagian antioksidan berdasarkan fungsinya, yaitu: antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru, misalnya: SOD, *Glutathione peroxidase* (GPX) dan protein pengikat mata. Antioksidan sekunder

berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai, contohnya: Vitamin E, Vitamin C, Karoten, asam urat, bilirubin dan albumin. Antioksidan tersier akan memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas.¹³

Tokoferol adalah vitamin E yang larut dalam lemak, minyak, alkohol, aseton, eter, dan pelarut lemak lainnya. Vitamin ini stabil pada pemanasan. Jika terkena oksigen akan teroksidasi secara perlahan-lahan. Pertama kali ditemukan pada tahun 1922 ketika diketahui bahwa tikus betina memerlukan sesuatu substansi yang tidak dikenal di dalam dietnya untuk mempertahankan kehamilan normal. Tikus jantan yang kekurangan zat ini juga mengalami kelainan pada testisnya. Vitamin ini pertama kali diisolasi pada tahun 1936 dari tepung gandum. Ditemukan sebagai kombinasi dari delapan molekul rumit yang serupa dan dikenal dengan nama tokoferol. Sumber murni yang paling banyak mengandung vitamin E adalah minyak biji gandum, alfalfa dan selada. Suplemen vitamin E biasanya dipasarkan dalam bentuk alpha-tocopheryl acetate, bentuk sintetikanya berlevel “D” dan “L”, dimana “D” adalah bentuk naturalnya.¹⁵

Tokoferol sebagai antioksidan dapat bereaksi dengan ROS dan radikal bebas lain. Pada proses ini tokoferol berperan sebagai radikal bebas yang tidak reaktif sehingga akan berikatan dengan electron bebas dari radikal bebas reaktif lain. Perlakuan pemaparan asap rokok secara kronik dan vitamin E menunjukkan hasil kadar MDA serum lebih rendah bila dibandingkan dengan perlakuan kronik saja (hanya diberi paparan asap rokok kronik). Jadi, keberadaan antioksidan nonenzimatik seperti vitamin E diperlukan untuk dapat mengatasi stress oksidatif dalam tubuh. Vitamin E, terutama tokoferol merupakan antioksidan yang sangat aktif dalam mencegah peroksidasi lipid dengan menangkap peroksil lipid. Tokoferol akan mentransfer atom hydrogen (dengan electron tunggalnya).

Pada penetralan radikal bebas, vitamin E akan berubah menjadi radikal, tetapi radikal vitamin E lebih stabil sehingga reaksi penjarangan radikal bebas tidak terjadi. Pemberian dosis tinggi vitamin E dapat berfungsi sebagai prooksidan.¹³

Vitamin E (tokoferol) telah banyak didokumentasikan sebagai antioksidan yang mempunyai kemampuan tinggi dalam memproteksi sel dari radikal bebas. Dalam sebuah penelitian, kemampuan proteksi ini telah dibuktikan secara in vitro. Variable yang dimonitoring adalah MDA (*malonaldehyde*). Pemberian vitamin E dapat menurunkan kadar MDA pada mencit yang diberi paparan asap rokok secara kronik, walaupun tidak signifikan.¹⁶

KESIMPULAN

1. Pemberian vitamin E tidak berpengaruh signifikan terhadap peningkatan jumlah spermatozoa mencit jantan strain BALB/C yang diberi paparan asap rokok
2. Paparan asap rokok memberi pengaruh yang signifikan terhadap penurunan jumlah spermatozoa.
3. Tidak terdapat perbedaan jumlah spermatozoa yang signifikan antar kelompok yang diberi paparan asap rokok dan vitamin E dosis bertingkat.

SARAN

1. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian antioksidan lainnya terhadap peningkatan kualitas spermatozoa.
2. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh paparan asap rokok terhadap organ-organ lain selain organ reproduksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada dr. Ahmad Zulfa Juniarto, M.Si, Med selaku dosen pembimbing atas waktu, bimbingan dan bantuannya dalam keseluruhan pelaksanaan penelitian ini. Dan kepada seluruh pihak yang telah membantu penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dan pelaksanaan penelitiannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ashok Agarwal, et al. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility :a clinical approach. BJU International. 2005
2. Ashok Agarwal, et al. Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficult balance. Iranian

3. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril* 2003; 79(3): 1597-1605
4. Zavos PM, Correa JR, Karagounis CS, Ahparaki A, Phoroglou C, Hicks CL, et al. An electron microscope study of the axonemal ultrastructure in human spermatozoa from male smokers and nonsmokers. *Fertil Steril* 1998; 69: 430-434
5. Fraga CG, Motchnik PA, Wyrobek AJ, Rempel DM, Ames BN. Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA. *Mutat Res* 1996; 351:199-203
6. Vine MF, Tse CK, Hu P, Truong KY. Cigarette smoking and semen quality. *Fertil Steril* 1996; 65: 835-842
7. Ozdamara, AS et al. Testicular oxidative stress. *Urologia Internationalis*. 2004
8. Ashok Agarwal, et al. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *BJU International*. 2005
9. Sikka, et al. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Frontiers in Bioscience*. 1996
10. Ramadan A. Saleh, et al. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertility and sterility* vol. 78, no. 3, SEPTEMBER 2002
11. Wang X, Sharma RK, Gupta A, George V, Thomas AJ, Falcone T, et al. Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study. *Fertil Steril* 2003a; 80(2): 844-850.)
12. RJ Aitken, et al. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biology of Reproduction*, Vol 41, 183-197
13. Nanik S, et al. Pengaruh radikal bebas terhadap jumlah circulating endhotel pada darah tikus yang dipapar asap rokok kretek secara kronik. *Majalah Kedokteran Unibraw* Vol.XIV, No. 3 Desember 1998.
14. F.James, Prescription for Nutritional Healing By Phyllis www.medikaholistik.com/180102
15. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2004.

<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>

16. Aitken, R.J., and Clarkson, J.S. Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Defining the Efficacy of Sperm Preparation Techniques. *Journal of Andrology*, Nov/Dec 1988; 9(6): 367-376.